

BAB 1

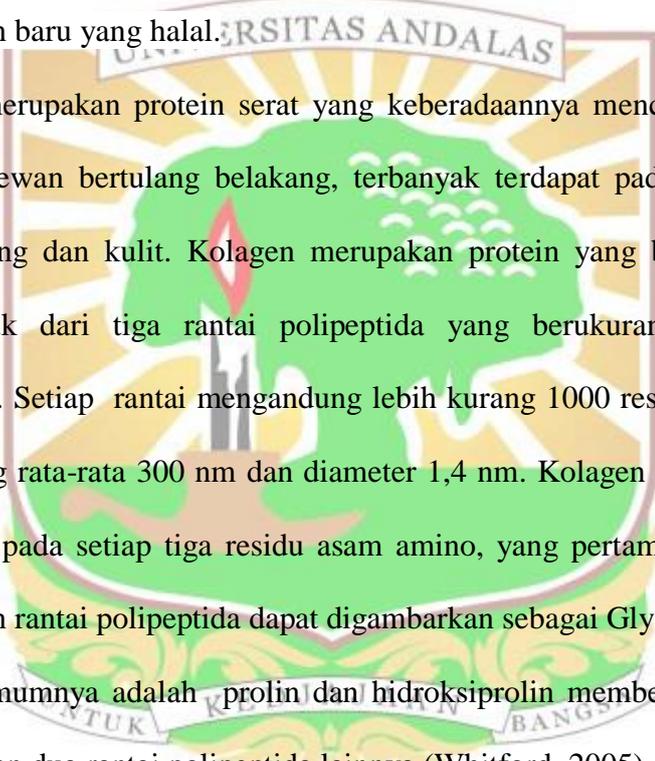
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Balutan luka (*wound dressing*) saat ini berkembang pesat, prinsip lama yang menyebutkan penanganan luka harus dalam keadaan kering, ternyata dapat menghambat penyembuhan luka, karena menghambat proliferasi sel dan kolagen, menghancurkan *fibrin clot* yang sudah terbentuk dalam proses pengantian balutan, dan luka yang terlalu basah juga akan menyebabkan maserasi kulit sekitar luka. Perawatan luka menggunakan prinsip kelembapan seimbang (*moisture balance*) dikenal sebagai metode *modern dressing*. Perawatan luka dengan suasana lembap akan mempercepat fibrinolisis, mempercepat angiogenesis, menurunkan risiko infeksi, mempercepat pembentukan *growth factor*, dan mempercepat pembentukan sel aktif. Pada keadaan lembap, invasi neutrofil yang diikuti oleh makrofag, monosit, dan limfosit ke daerah luka berlangsung lebih dini (Kartika, 2015). Film balutan primer merupakan hidrogel berfungsi untuk menciptakan lingkungan luka tetap lembab, pada saat diaplikasikan tidak menimbulkan trauma dan sakit karena tidak ada pengantian pembalut selama tiga hari sampai tujuh hari. Selain itu juga melunakkan dan menghancurkan jaringan nekrotik tanpa merusak jaringan sehat yang akan terserap ke dalam struktur gel dari film balutan primer.

Indonesia mempunyai kekayaan alam yang berlimpah untuk dijadikan bahan baku obat maupun bahan pembantu obat (eksipten). Salah satunya adalah ikan gabus (*Channa striata*) yang banyak ditemukan di sungai, danau dan rawa, kadang juga ditemukan di air payau berkadar garam rendah dan dapat hidup di air kotor dengan kadar oksigen rendah, bahkan tahan terhadap kekeringan dengan

bertahan hidup di dalam lumpur. Ikan gabus adalah salah satu ikan sebagai sumber protein yang penting sebagai sumber pangan tapi juga mengandung protein dan albumin yang secara tradisional sudah dimanfaatkan untuk penyembuhan luka bersalin pada ibu dan meningkatkan kekebalan tubuh pada anak-anak (Brotowidjoyo, 1995). Kulit ikan gabus berpeluang untuk diisolasi kolagennya karena memiliki kandungan kolagen yang cukup tinggi, disamping itu penduduk Indonesia yang mayoritas beragama Islam akan sangat memerlukan sumber kolagen baru yang halal.



Kolagen merupakan protein serat yang keberadaannya mencapai 30 % dari protein total hewan bertulang belakang, terbanyak terdapat pada jaringan ikat, otot, gigi, tulang dan kulit. Kolagen merupakan protein yang berbentuk *triple helix*, terbentuk dari tiga rantai polipeptida yang berukuran hampir sama (*tropokolagen*). Setiap rantai mengandung lebih kurang 1000 residu asam amino dengan panjang rata-rata 300 nm dan diameter 1,4 nm. Kolagen memiliki urutan yang berulang pada setiap tiga residu asam amino, yang pertama adalah glisin, sehingga urutan rantai polipeptida dapat digambarkan sebagai Gly-X-Y, dimana X dan Y pada umumnya adalah prolin dan hidrokisprolin membentuk *superhelix* putar kiri dengan dua rantai polipeptida lainnya (Whitford, 2005). Setidaknya ada 27 jenis kolagen yang berbeda, dinamakan tipe I-XXVII (Birk & Bruckner, 2005). Kolagen tipe I memiliki $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ *helix*, yang menjadi komponen utama penyusun jaringan ikat tulang, kulit dan tendon (Muyonga, *et al.* 2004)

Metoda ekstraksi kolagen pada umumnya menghasilkan kolagen dalam bentuk garam netral yang terlarut, kolagen bentuk asam yang terlarut dan *pepsin solubilized collagen* (PSC) (Ward & Courts, 1977). Metoda PSC sudah banyak

dipakai untuk ekstraksi kolagen dari sumber yang berbeda, seperti dari kulit ikan *ocellate puffer (Takifugu rubripes)* (Nagai *et al.* 2002), kulit *albacore tuna* dan *silver-line grunt* (Noitup *et al.* 2005), tulang dan sisik *black drum* dan *sheepshead seabream* (Ogawa, 2004), kulit *nila tilapia* (Potaros *et al.* 2009) dan kulit *black drum* dan *sheepshead seabream* (Ogawa *et al.*, 2003).

Noitup *et al.* (2005) mengekstraksi kolagen dari kulit *albacore tuna* dan *silver-line grunt* pada 4-6°C dan untuk seluruh proses memakai sentrifugasi berkecepatan 30.000 g (grav) (biasa disebut sebagai metode Noitup), sedangkan Ogawa *et al.* (2003) mengekstraksi tulang dan sisik *black drum* dan *sheepshead seabream* dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari 22-23°C, dengan kecepatan sentrifugasi 10.000 g (metode Ogawa). Kolodziejska *et al.* (1999) melaporkan bahwa suhu selama proses ekstraksi kolagen akan sangat mempengaruhi hasil, kelarutan dari kolagen yang berubah jadi gelatin dengan rantai lurus akan naik dengan naiknya suhu dan terlarut sempurna pada suhu 45 °C.

Pada proses ekstraksi kolagen dengan metoda PSC diatas memerlukan enzim pepsin yang bisa diperoleh dari usus sapi, usus babi, telur ikan tuna (Choi, *et al.* 2002) dan ikan salmon (Li, *et al.* 2008). Enzim pepsin selain harganya mahal, kehalalannya juga diragukan, pada umumnya pepsin babi lebih mudah didapat, karena produksi pepsin sapi sangat terbatas jumlahnya. Untuk itu dicoba menggantinya dengan getah pepaya segar sebagai enzim proteolitik (Schechter, 2012).

Enzim proteolitik disebut juga enzim protease yang bekerja sebagai katalis dalam reaksi pemecahan molekul protein dengan cara menghidrolisis protein menjadi peptida, dan ikatan peptida menjadi asam amino. Protease dapat

diperoleh salah satunya dari tumbuhan pepaya (*Carica papaya* L.). Pepaya adalah tumbuhan penghasil enzim papain yang termasuk golongan enzim protease sulfhidril dengan gugus reaktif berupa gugus sulfhidril yang menyerang secara nukleofilik pada ikatan peptida (Dongoran, 2004). Papain relatif tahan terhadap panas dengan suhu optimum 60-70 °C dan pH optimum 6-7. Papain kasar (*crude papain*) terdiri dari papain, kimopapain A, kimopapain B dan papaya peptidase, membuat papain kasar mempunyai daya enzimatik papain jauh lebih tinggi dibandingkan dengan enzim papain murni yang hanya mengandung satu enzim saja (Silaban dkk. 2012). Enzim papain di dalam perdagangan dibagi menjadi dua jenis yaitu papain kasar (*crude papain*) dan papain murni (*purified papain*). Papain kasar adalah getah pepaya yang dikeringkan dan kemudian dihaluskan sehingga berbentuk tepung sehingga masih mengandung material dan enzim lainnya seperti kimopapain dan lisozim. Papain murni adalah papain kasar yang dimurnikan sehingga tidak mengandung material dan enzim lainnya selain enzim papain. Suhartono (1991) secara umum menyimpulkan bahwa daun pepaya mengandung papain sebanyak 10%, khimoprotein sebanyak 45% dan juga lisozim sebanyak 20%. Enzim khimoprotein berfungsi sebagai katalisator pada reaksi hidrolisis protein menjadi peptida, sedangkan enzim lisozim berperan sebagai anti-bakteri yang bekerja dengan cara memecah dinding sel pada bakteri. Lisozim adalah enzim yang memutuskan ikatan β -1,4-glikosida antara asam-N-asetil glukosamin dengan asam-N-asetil muramat pada peptidoglikan sehingga dapat merusak dinding sel bakteri, lalu air dapat masuk ke dalam sel hingga sel jadi menggelembung dan akhirnya pecah, proses tersebut disebut dengan lisis (Madigan *et al.* 2006). Enzim dapat mempercepat reaksi biologis, dari reaksi

yang sederhana sampai reaksi yang sangat rumit. Enzim bekerja dengan cara menempel pada permukaan molekul zat-zat yang bereaksi sehingga mempercepat proses reaksi. Percepatan reaksi terjadi karena enzim menurunkan energi pengaktifan yang dengan sendirinya akan mempermudah terjadinya reaksi. Enzim mengikat molekul substrat membentuk kompleks enzim-substrat yang bersifat sementara dan lalu terurai membentuk enzim bebas dan produknya (Lehninger, 1993).

Luka bakar merupakan kerusakan jaringan yang disebabkan kontak dengan energi seperti panas, bahan kimia, listrik dan radiasi (Moenadjat, 2003). Kulit yang mengalami luka bakar akan mengalami kerusakan pada epidermis, dermis maupun jaringan subkutan bergantung faktor penyebab dan lamanya kulit mengalami kontak dengan energi atau penyebabnya. Dalamnya luka bakar akan mempengaruhi kerusakan atau gangguan integritas kulit dan kematian sel-sel (Effendi, 1999).

Proses penyembuhan luka bakar pada kulit masih menjadi persoalan di bidang kesehatan karena penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks yang melibatkan beberapa tahap yang saling berkaitan. Proses penyembuhan luka secara umum dapat dibagi atas tiga fase yang satu sama lain saling berkaitan, dimulai dari fase pertama inflamasi (eksudatif), fase kedua proliferasi, dan fase ketiga maturasi (*remodelling*). Pada saat luka terjadi, lingkungan disekitar luka akan kekurangan oksigen akibat kerusakan pembuluh darah karena trauma atau akibat aktifitas metabolime sel karena proses katabolik yang meningkatkan asam laktat. Suasana asam dan lembab di daerah sekitar luka didapat dari terbentuknya eksudat sebagai respon terhadap substansi vasoaktif, dan ini menyebabkan

konversi fibrosit menjadi fibrolas. Walaupun lingkungan sekitar luka dalam kondisi hipoksia, sel endotel dan fibrolas masih dapat berfungsi. Sel marginalis basalis bermigrasi sepanjang serat-serat dan permukaan luka akan dipenuhi oleh sel lekosit, *polymorphonuklear* (PMN) serta makrofag. Pada kondisi ini luka sudah mengalami kontak secara selular selama 48 jam (2 hari). Proliferasi sel kapiler yang cepat dan segera setelah luka akan mengakibatkan perubahan tekanan oksigen di sekitar luka melalui proses pembuatan pembuluh darah baru. Hipoksia disekitar luka pada awal luka akan merangsang perbaikan jaringan dan angiogenesis serta memacu sintesis sitokin seperti *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α), *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-4* (IL-4), serta *Platelet-Derivat Growth Factor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β), tetapi ini hanya berlangsung selama 48 jam setelah luka. Bila keadaan hipoksia terus berlanjut tekanan oksigen sekitar luka akan menurun, mengakibatkan proses sintesis kolagen jadi terhambat (Barrientos, *et al.* 2008).

Transforming Growth Factor beta (TGF- β) merupakan faktor pertumbuhan yang mempunyai banyak fungsi, diantaranya meregulasi pertumbuhan sel, diferensiasi dan pembentukan matriks ekstraselular termasuk kolagen dan fibronektin yang mempercepat penyembuhan luka (Cowin *et al.* 2001, Jude *et al.*, 2002). *Transforming Growth Factor beta* dapat menyebabkan apoptosis dari beberapa sel diantaranya sel B, epitel paru dan sel hematopoitik (Dennler, *et al.* 2002). Faktor pertumbuhan ini juga berperan untuk meningkatkan ekspresi integrin sehingga meningkatkan interaksi antara sel dengan matriks (Lorenz, *et al.* 2003).

Kolagen mempunyai peranan penting dalam proses penyembuhan luka karena kolagen mempunyai kemampuan dalam hemostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin dan meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen selular, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan kadang kadang pada proliferasi epidermis (Werner, *et al.* 2003).

Pada saat ini para ahli telah melakukan beberapa penyelidikan pemakaian balutan luka pada luka bakar. Pembalut luka (*wound dressing*) berfungsi untuk menutupi atau melindungi jaringan baru, menyerap cairan atau nanah yang keluar dari luka, mengurangi rasa sakit dan juga diharapkan dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Pembalut luka primer yang kontak langsung dengan luka saat ini pada umumnya berbahan dasar karbohidrat seperti kitosan dan alginat. Dari bahan tersebut akan dihasilkan produk balutan luka yang berdaya serap tinggi, mudah digunakan atau dilepaskan, melindungi terhadap serangan bakteri, dan menutupi luka (Mutia dan Eriningsih, 2012). Menurut Carville (2012) dalam bukunya *Wound Care Manual* menetapkan 15 kriteria balutan luka yang ideal, yaitu; dapat mengeluarkan kelebihan eksudat, dapat mempertahankan kelembaban dalam penyembuhan luka, memungkinkan adanya pertukaran gas, dapat mendukung isolasi *thermal* dari luka, dapat menjadi penghalang kuman patogen, dapat mencegah infeksi, tidak meninggalkan serat atau substansi toksis bagi penyembuhan luka, tidak menimbulkan sensitifitas atau reaksi alergi, dapat melindungi dari trauma mekanik seperti tekanan, tarikan atau pun gesekan, mudah dilepaskan tapi tidak menimbulkan trauma jaringan, mudah diaplikasikan, nyaman digunakan, mengikuti lekukan tubuh, tidak mengganggu fungsi tubuh dan ekonomis.

Balutan primer yang dibuat dari kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) berpeluang memenuhi banyak persyaratan ideal balutan luka bakar diatas. Film kolagen akan dapat mempertahankan kelembaban dalam penyembuhan luka karena film kolagen memiliki pori yang terbentuk karena pengosongan ruang yang sebelumnya berisi pelarut. Reaksi alerginya oleh film kolagen akan rendah karena kulit ikan gabus (*Channa striata*) bukan pencetus alergen yang tinggi, dapat melindungi dari trauma mekanik seperti tekanan, tarikan atau pun gesekan, nyaman digunakan, mengikuti lekukan tubuh, tidak mengganggu fungsi tubuh dan tidak meninggalkan serat atau substansi toksis bagi penyembuhan luka karena film kolagen akan diserap di daerah luka sehingga tidak membutuhkan pengantian balutan.

Sediaan berupa film di bidang farmasi masih sangat sedikit sekali yang melakukan penelitian. Film adalah sediaan farmasi yang dikembangkan dari sediaan gel. Film dibentuk dari gel yang di uapkan pelarutnya, menyisakan film tipis transparan. Kualitas film yang terbentuk akan sangat tergantung pada formula gel. Tidak semua formula gel cocok dijadikan sediaan film karena tidak semua bahan pembentuk gel bisa membentuk film yang kontinu, tidak rapuh dan mempunyai elastisitas yang memadai agar film tidak mudah robek. Untuk itu perlu pemilihan polimer yang saksama dan memformulasikan bahan tambahan lain yang sesuai.

Kolagen adalah molekul besar yang akan cukup sulit melewati barrier kulit (epidermis). Belum ada penelitian yang membuktikan bahwa kolagen yang diberikan secara sistem penghantaran obat transdermal dapat berefek sistemik. Pemakaian film kolagen sebagai balutan luka bakar primer yang diaplikasikan

pada luka bakar derajat satu yang berarti hilangnya lapisan epidermis. Bila didapatkan film kolagen dapat mempercepat penyembuhan pada luka bakar derajat satu, peluang kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) dapat dikembangkan untuk penyembuhan luka bakar dengan berbagai tingkat keparahan luka.

Berdasarkan latar belakang di atas, pada penelitian ini telah berhasil dilakukan isolasi kolagen dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) menggunakan kombinasi asam asetat dan getah pepaya (*Carica papaya*) segar tanpa menggunakan proses sentrifugasi berkecepatan sangat tinggi selama proses. Merancang dan membuat formula film balutan primer mengandung kolagen yang diisolasi dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) dan melihat pengaruh film terhadap penyembuhan luka bakar dengan mengukur kadar TGF- β (*Transforming Growth Factor beta*) dalam serum mencit putih jantan, pengamatan visual pada luka bakar untuk melihat penyembuhan luka secara makroskopik dan biopsi kulit mencit yang sama untuk melihat penyembuhan luka secara mikroskopik.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah serbuk kolagen dapat diisolasi dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) menggunakan kombinasi asam asetat dan getah pepaya (*Carica papaya*) segar tanpa menggunakan proses sentrifugasi berkecepatan sangat tinggi selama proses dapat dilakukan?
2. Apakah karakterisasi serbuk kolagen yang diisolasi dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) dapat dilakukan?

3. Apakah film balutan primer yang mengandung kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) dapat dibuat?
4. Apakah ada pengaruh sediaan film balutan primer yang mengandung kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) terhadap kadar TGF- β dalam serum mencit putih yang mengalami luka bakar?
5. Apakah ada pengaruh sediaan film balutan primer yang mengandung kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) terhadap penyembuhan luka pada kulit mencit putih yang mengalami luka bakar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa serbuk kolagen dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) dapat diisolasi dengan metoda yang lebih sederhana, serbuk kolagen yang diperoleh bisa dibuat menjadi film balutan primer dan mampu mempercepat penyembuhan luka bakar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa serbuk kolagen dapat diisolasi dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) menggunakan kombinasi asam asetat dan getah pepaya (*Carica papaya*) segar tanpa menggunakan proses sentrifugasi berkecepatan sangat tinggi selama proses.
2. Membuktikan bahwa karakterisasi serbuk kolagen yang diisolasi dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) dapat dilakukan.
3. Membuktikan bahwa pembuatan film balutan primer yang mengandung kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) dapat dibuat.

4. Membuktikan bahwa film balutan primer untuk luka bakar yang mengandung kolagen ikan gabus (*Channa striata*) dapat mempengaruhi kadar TGF- β dalam serum mencit putih yang mengalami luka bakar.
5. Membuktikan bahwa film balutan primer yang mengandung kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) bisa mempercepat penyembuhan luka secara makroskopik maupun mikroskopik pada mencit putih yang mengalami luka bakar.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memberikan kontribusi pada:

1. Pengembangan Ilmu

Dengan didapatkan metoda isolasi kolagen dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) menggunakan kombinasi asam asetat dan getah pepaya (*Carica papaya*) segar tanpa menggunakan sentrifugasi berkecepatan sangat tinggi selama proses akan merupakan suatu terobosan baru yang efisien dan ekonomis dalam mengisolasi kolagen. Keberhasilan membuat disain formula film balutan primer yang mengandung kolagen untuk luka bakar yang memenuhi syarat sediaan farmasetik dapat menjadi dasar ilmiah dalam pengembangan sediaan film kolagen untuk balutan primer luka bakar steril sebagai *modrern dressing* tanpa perlu penggantian balutan. Bila film balutan primer untuk luka bakar yang terbuat dari kolagen yang diisolasi dari ikan gabus (*Channa striata*) dapat mempengaruhi kadar TGF- β dalam darah mencit putih yang mengalami luka bakar, dapat mempercepat penyembuhan luka secara makroskopik dan mikroskopik, ini akan membuktikan bahwa

kolagen memang berpeluang besar kedepannya untuk menjadi bahan aktif pada penyembuhan luka pada berbagai tingkat keparahan luka.

2. Masyarakat

Memanfaatkan limbah kulit ikan menjadi produk yang berdaya jual tinggi menjadi kolagen yang sudah dikarakterisasi dan menghasilkan kolagen yang terjamin kehalalannya.

3. Praktisi

Dapat memakai metoda isolasi kolagen yang didapat untuk produksi kolagen dalam skala industri, dan pemakaian film balutan primer steril yang mengandung kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) sebagai alternatif yang lebih baik dan lebih praktis untuk balutan primer luka bakar.

